

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. W. Schmid

Beeinflussung der Hexobarbitalnarkose durch Chloramphenicol und seine Abbauprodukte

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
in der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

Ulrich Jehn

aus Marburg

Marburg 1966

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. W. Schmid

Beeinflussung der Hexobarbitalnarkose durch Chloramphenicol und seine Abbauprodukte

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
in der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

Ulrich Jehn

aus Marburg

Marburg 1966



Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 22. Februar 1966

gedruckt mit der Genehmigung der Fakultät
Dekan: Prof. Dr. med. O. Braun-Falco
Referent: Prof. Dr. med. W. Schmid
Correferent: Prof. Dr. med. M. Siess

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. med. W. Schmid
möchte ich für die Anregungen und die freundliche Hilfe
und Anleitung bei der Arbeit danken.

Auch Herrn Professor Dr. med. M. Siess danke ich für die
Übernahme des Correferates.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	1
B. Versuchsmethoden	3
1. Versuchstiere	3
2. Messung der Narkosezeit	3
3. Statistische Berechnungen	3
4. Zur Methodik der Dünnschicht- chromatographie	4
C. Versuchsergebnisse	4
I 1. Vorversuche mit Evipan und Halothan	4
2. Chloramphenicol und das zur p-Aminoverbindung reduzierte Ch	6
3. Die molekularen Komponenten des Ch	8
II Wirkung auf die Evipanmarkose von	
1. Digitoxin, Strophanthin, Papaverin, Reverin	12
2. p-Oxybenzoesäureester, Gallussäureester	13
D. Diskussion	15
E. Zusammenfassung	17
F. Literaturverzeichnis	18

Anhang: Abbildungen 1 - 7
 Tabellen 1 - 7



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. Einleitung

Es wurde beobachtet, daß Chloramphenicol (Ch) bei Mäusen und Ratten eine Verlängerung der Hexobarbitalnarkose (H) und eine verzögerte H-Blutspiegelabnahme bewirkt (Spröggel¹). Die Narkoseverlängerung durch Ch wird auf Grund von Untersuchungen von A.Krug² mit einer Hemmung des H-Abbaues in den Lebermikrosomen erklärt. Als Ursache wird angenommen, daß eine Konkurrenz um Entgiftungsfermentsysteme in den Lebermikrosomen zu einer Hemmung des H-Abbaues führt. Weitere Untersuchungen hatten Hinweise ergeben, daß die aromatische Nitrogruppe des Ch mit der Hemmwirkung in Zusammenhang steht.

Wegen der allgemeinen therapeutischen Bedeutung des Ch ist es besonders interessant zu wissen, ob dabei auf Grund der Fermentblockierung durch die aromatische Nitrogruppe die Toxizität anderer Substanzen ansteigt, zumal auch Todesfälle durch Ch in therapeutischen Dosen beim Kleinstkind und durch Ch in Kombination mit anderen Medikamenten (Bredschneider, Stur u. Zweymüller³) besonders Analeptica und Strophanthin beim älteren Säugling bekannt wurden.

In der vorliegenden Arbeit gingen wir von der Vorstellung aus, daß nicht eine, sondern vor allem zwei signifikante funktionelle Gruppen an der Hemmwirkung der Mikrosomen beteiligt sind und zwar: die p-Nitrophenyl-Gruppe und die Dichloracetamido-Gruppe.

Die p-Nitrophenyl-Gruppe ist insofern interessant, als sie in Naturstoffen nur im Ch aufgefunden wurde. Es wäre anzunehmen - sofern das Ch nicht als Glucuronid entgiftet wird -, daß die Nitrogruppe fermentativ reduziert wird. Folglich haben wir das zur p-Aminoverbindung reduzierte Ch eingesetzt.

Die andere Variationsmöglichkeit mit physiologischer Wirkungserwartung ist die Dichloracetamidogruppe. Es ist zu erwarten, daß die Dichlorogruppe zunächst auf Grund ihrer Polartät oxidiert und somit abgespalten wird. Auch die Acetamidogruppe unterliegt in vitro der Hydrolyse. Deshalb haben wir folgende Verbindungen getestet unter der Annahme, daß die ein-

zelnen Zwischenprodukte im Körper auftreten würden. Wie G.N.Smith u.C.S.Worrel⁴ mittels Papierchromatogramm aufzeigen, treten die nachfolgend aufgeführten Produkte als Hydrolyseprodukte des Ch im Rattenharn auf. Es wird vermutet, daß eine schrittweise Hydrolyse bis mindestens zur Benzoessäure eintritt (s.Abb.1).

- a) d,l-1-p-Nitrophenyl-2-amino-1,3 propandiol
- b) d,l-1-p-Aminophenyl-2-amino-1,3 propandiol
- c) α -Acetamido- β -hydroxy-p-nitropropiophenon
- d) α -Acetamido-p-nitro-acetophenon
- e) Trichloressigsäure-Na
- f) Trichloracetamid
- g) Dichloracetamid
- h) Tween 80 - als Suspensionsstabilisator d.obg.Subst.
- i) Kombinationen von a) - g).

Im II. Teil wurden weitere Substanzen in die Untersuchungen mit einbezogen, wobei wiederum die Beeinflussung der Evipanarkose als Test diente. Es interessierten dabei vor allem zwei Fragen:

1. ob durch Hydroxylierung am Steranring (Digitoxin und Strophanthin) oder durch O-Demethylierung (Beispiel: Papaverin) in gleicher Weise wie durch Alkyloxydation der Barbitale eine Aktivierung der Mikrosomenfermente hervorgerufen wird; weiterhin, ob sich bei dem injizierbaren Tetracyclinpräparat Reverin eine Leberschädigung nachweisen läßt, da in letzter Zeit in den USA durch andere injizierbare Tetracycline über eine solche berichtet wurde.
2. ob durch Substanzen, die einen aromatischen Ring enthalten und die möglicherweise hydroxyliert werden, bei länger dauernder Verabreichung Veränderungen der Mikrosomenaktivität hervorgerufen werden. Für diesen Punkt wurden zwei Substanzen verwendet, welche heute als Konservierungsmittel in Lebensmitteln und pharmazeutischen Zubereitungen eine breite Anwendung finden, nämlich p-Oxybenzoessäure(-methyl-aethyl-propyl-)ester und Gallussäure-n-propyl-ester.

B. Versuchsmethoden

1. Versuchstiere:

Es wurden 1351 männliche Mäuse und 8 Ratten verwandt. Die Versuchstiere stammten aus der Bundesforschungsanstalt für Virusforschung, Tübingen und wurden mit Futter der Firma Latz ernährt. Vorwiegend wurden Mäuse mit einem Gewicht zwischen 20 - 30 g benutzt = mittlere Tiere. Kaum junge Tiere = unter 20 g, wenige alte = über 30 g. Bei den meisten Versuchen wurden Gruppen von je 10 Mäusen gebildet. Die zu untersuchenden Medikamente wurden nach Tier-Gewicht subcutan injiziert.

2. Messung der Narkosezeit:

Als "narkotisiert" betrachteten wir die Tiere, wenn sie Seitenlage ertrugen. Die Zeit nach der Injektion des Evipans bis zu diesem Zeitpunkt betrug durchschnittlich 2 Min. und war durch ein Excitationsstadium mit tonisch-klonischen Streckkrämpfen gekennzeichnet, wobei die Tiere ca. 5 cm hoch sprangen. Junge Tiere zeigten in der Regel eine stärkere Excitation als alte und mittlere. Daraufhin wurden sie in Rückenlage gebracht. Die Raumtemperatur betrug mindestens 24° und höchstens 30°. Als Kriterium für das Aufwachen galt, wenn die Tiere sich spontan aus der Rückenlage aufrichteten und nicht mehr nach künstlicher Seitenlage in dieser Stellung verharreten. Anhand dieser Symptome wurde für jedes einzelne Tier bei größter Ruhe im Versuchsraum die Narkosedauer, d.h., die Zeit zwischen Eintritt der Narkose und Aufwachen bestimmt. Nach dem Aufwachen verharreten die Mäuse durchschnittlich 30 Min. in hockender Stellung bis sie spontan umherliefen. Diese Zeit wird nach W.Bolz⁵ als Nachschlaf bezeichnet. - Das Narkosemittel war immer Evipannatrium.

3. Statistische Berechnung:

Zunächst wurden die Mittelwerte jedes einzelnen Versuches errechnet und die Abweichung jeder einzelnen Narkosezeit vom entsprechenden Mittelwert bestimmt.

Die Streuung des Mittelwertes wurde nach der Beziehung:

$$\sigma_m = \sqrt{\frac{\sum (x - x_m)^2}{n(n-1)}}$$

berechnet, wobei n = Anzahl der Versuchstiere, $x - x_m$ = Abweichung vom Mittelwert.

t wurde nach der Gleichung $t = \frac{M - M}{\sqrt{\sigma_x^2 - \sigma^2}}$ ermittelt. Entsprechend der Anzahl der Versuche wurden die Signifikanzschranken der Student-Verteilung bestimmt. Als statistisch gesichert wurde ein p 0,01 angenommen.

4. Zur Methodik der Dünnschichtchromatographie:

Für die Chromatogramme Abb.5,6,7 gelten:

Fließmittel: n-Butanol / Eisessig / H₂O (wassergesättigt)
4 1 3

Laufzeit: 2 Std.

Detektion f. Abb.5 + 6: Besprühen mit einer Titan-3-chlorid-Lösung, Oxydation des überschüssigen Titan in Bromdampf; Diazotierung mit tertiärem Butylnitrit und Kuppeln mit N-Naphthylaethyldiamin-HCl.

f. Abb.7: Diazotierung mit tert. Butylnitrit und Kuppeln mit N-Naphthylaethyldiamin-HCl.

C. Versuchsergebnisse

I. 1. Vorversuche mit

a) Evipan bei einmaliger Dosis:

Es erwies sich als notwendig, die Tiere wegen der bekannten Tagesperiodizität immer zur gleichen Tageszeit in den Versuch zu bringen. Übereinstimmend mit anderen Beobachtungen fanden auch wir, daß die Tiere am frühen Nachmittag tiefer und länger schliefen als vormittags. Zuerst wurde Evipannatrium in verschiedenen Dosierungen (Tab.1) mit einer Tuberculinspritze (= 1 ml Inhalt, 100 Teilstriche) gespritzt, um die für die folgenden Versuche optimalste Dosis zu finden. Wir entschieden uns zunächst für eine 3%ige wässrige Lösung, 1/3 x Gewicht, d.h. 0,1 g/kg Maus intraperitoneal, weil dabei

die Abweichung vom Mittelwert und die Streuung des Mittelwertes am geringsten war. Es wurden für 197 Tiere bei dieser Dosierung und Technik (= i.p.) eine mittlere Schlafzeit von 27,8 Min. errechnet.

Da es sich im Laufe der ersten Versuche zeigte, daß manche Kontrolltiere bei dieser Dosierung nicht schliefen, erhöhten wir die Dosis und gaben eine 3%ige wässrige Evipanlösung, $1/2 \times$ Gewicht, d.h. 0,15 g/kg Maus i.p. Es wurden für 374 Tiere bei dieser Dosierung und Technik eine mittlere Schlafzeit von 71,5 Min. errechnet.

b) Evipan bei wiederholter Dosierung:

Es wurden 2 Serien à 10 Tiere mit jeweils frischen Kontrolltieren mit einer Dosis von 0,1 g/kg i.p. gespritzt; die eine alle 24 Std., die andere alle 48 Std.

Die 24-Std.-Tiere zeigten bereits bei der 2. Narkose eine deutliche Verkürzung der Schlafzeit von 25,7 Min. auf 18,1 Min., eine signifikante jedoch erst bei der 3. Narkose auf 17,3 Min. (Kontrolltiere 25,8 Min.). Sie sank maximal bis 13,5 Min., um auf diesem Niveau zu bleiben. Hier legten wir eine viertägige Pause ein, um zu sehen, ob eine Reversibilität der Aktivitätserhöhung in den Lebermikrosomen bestünde. Nach dieser Zeit war keine Gewöhnung bzw. Verkürzung der Narkose mehr feststellbar. Nach abermaliger Pause von zwei Tagen wurde denselben Tieren Luminal 2 % - $1/2 \times$ Gew. = 0,1 g/kg s.c. verabfolgt. 24 Std. später bekamen sie wieder Evipan und zeigten eine Verkürzung der Narkosezeit von 25,7 auf 16,8 Min. Weitere 24 Std. später erreichten sie mit 7,7 Min. den tiefsten Stand, um dann alle weiteren 24 Std. langsam anzusteigen bis maximal 13,9 Min. Nach letztmaliger Pause von 4 Tagen übertrafen sie den Ausgangswert um 8,2 Min. (= 33,9 Min.) (s. Abb. 2).

Die 48-Std.-Tiere zeigten erst am 3. Tag eine minimale Verkürzung der mittleren Schlafzeit, die jedoch statistisch nicht gesichert werden konnte. Bei einer Erhöhung der Evipandosis auf 0,15 g/kg i.p. und verkürzter Verabfolgung auf 24 Std. war eine zu vermutende Verkürzung der Schlafzeit zu sehen, da eine signifikante Ver-

kürzung erst zum 4. Tag der Dosiserhöhung erfolgte (Abb.3). - Zur weiteren Klärung wurde eine neue 24 Std. Serie bei erhöhter Dosis angesetzt. Es konnte gezeigt werden, daß bereits bei der 2. Narkose die Schlafzeit signifikant verkürzt war. Sie fiel nicht unter 31,8 Min. und war nach einer 48-stündigen Pause noch leicht unter dem Kontrollwert (s.Abb.4).

c) Evipannatrium nach Vorausgabe von Halothan:

In diesem Zusammenhang war die Frage von Interesse, ob an Halothannarkose gewöhnte Tiere ebenfalls eine Veränderung der Evipanschlafzeit zeigten. Wir verwendeten Tiere mit einer tgl.-1 stündigen - 1 %igen Halothan-vollnarkose (Inhalation). Die Tiere hatten bei Halothan eine gewisse Gewöhnung gezeigt: sie schliefen wesentlich flacher als zu Beginn der Versuche. 5 Std. nach der letzten Halothangabe bei 5 maliger Verabfolgung derselben wurden 12 Tieren 0,1 g/kg gegeben. Die mittlere Schlafzeit lag 27,7 Min. über der der Kontrolltiere von 33,3 Min. und war damit signifikant verlängert. Noch nach 27 Std. bei 15 maliger Vorausgabe von Halothan war eine signifikante Verlängerung der Evipannarkose vorhanden. Nach 30 Std. bei 7 maliger Halothangabe war sie nicht mehr nachweisbar (s.Tab.2). Die Kontrolltiere blieben stets dieselben und zeigten die schon bei den vorausgegangenen Versuchen gefundene Gewöhnung.

2. Chloramphenicol und das zur p-Aminoverbindung reduzierte Ch.:

(s. Abb.1 li.)

Vorweg wurde noch einmal die Beobachtung bestätigt, daß Ch die Evipannarkose signifikant verlängert, wobei hier Ch als 0,2 %ige wässrige Lösung - 1 x Gew. = 0,02 g/kg s.c. 30 Min. vor der Narkose mit Evipan verabfolgt wurde. Die Schlafzeit betrug im Schnitt 170,4 Min. gegenüber 61,8 Min. der Kontrolltiere. Wie aus den späteren Vergleichsversuchen hervorgeht, ist eine signifikante Verlängerung noch bei 5 mg/kg vorhanden.

*) Ch wurde uns als Leucomycin^R freundlicherweise von der Firma Bayer zur Verfügung gestellt.

Sodann wurde die p-ständige Nitrogruppe des Ch zur Amino-
gruppe (= "red. Ch") mit Palladium/Bariumsulfat-Katalysa-
tor 5 % hydriert.

Verfahren: 1 Mol Ch wurde in aequimolarer $\frac{n}{10}$ methanoli-
scher HCl gelöst, mit 3 Mol H_2 im Hydriergerät
in Anwesenheit von $Pd/BaSO_4$ -Katalysator hy-
driert und das Hydrochlorid der Base mit trok-
kenem Aether ausgefällt.

Das Produkt erwies sich in der Dünnschichtchromatographie
als einheitlich und frei von Verunreinigungen (s.Abb.7).
Diese Substanz wurde 30 Min. vor der Narkose mit Evipan
in verschiedenen Konzentrationen s.c. gegeben und gegen
Ch verglichen:

Als 1 %ige wässrige Lösung - $1/2 \times$ Gew. s.c. = 0,05 g/kg
verabfolgt, war sie mit 89,1 Min./53,6 der Kontrolltiere
signifikant schlafverlängernd, ebenso als 0,2 %ige Lösung
- $1 \times$ Gew. oder 0,02 g/kg in zwei Versuchen. Hingegen wa-
ren 0,005 g/kg ohne signifikante Verlängerung, obwohl der
Durchschnittswert mit 79 Min. noch 18 Min. über dem der
Vergleichstiere lag, während Ch - wie oben erwähnt - in
dieser Dosierung mit 95,9 Min./61 der Kontrolltiere noch
eine signifikante Schlafverlängerung zeigt (s.Tab.3).

Da die hydrierte Substanz schwächer wirksam war als das
oxidierte Ausgangsprodukt, war zu vermuten, daß sie in
der Leber oxidiert werden könnte analog zu anderen bekann-
ten Redoxvorgängen (Beisp.: Anilin-Kiese⁶). Deshalb inji-
zierten wir diese p-Aminoverbindung des Ch 8 Ratten i.p.
in einer Dosis von 150 mg/kg und untersuchten den Harn:

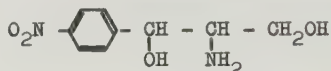
Methodik: 24 Std.-Harn mit 50 ml Essigester 2 x ausge-
schüttelt, im Vacuum konzentriert und in weni-
gen ml Methanol gelöst.

Wir fanden, daß nur das reduzierte Ausgangsprodukt ausge-
schieden wird, nicht aber höhere Oxydationsstufen, d.h.,
es ergab sich kein Hinweis dafür, daß aus diesem das Ch
selbst entsteht. Das vergleichende Chromatogramm (s.Abb.7)
liefert den Beweis. Besonders auffallend ist, daß die beim
Ch regelmäßig gefundenen Abbauprodukte - p-Nitro- und
p-Aminophenyl-2-amino-1,3 propandiol (s.Abb.6) und α -Acet-
amido- β -hydroxy-p-nitropropiophenon (s.Abb.5) - auf den

Dünnschichtchromatogrammen bei hydriertem Ch nicht aufgefunden werden konnten. Das reduzierte Ch wird demnach zum überwiegenden Teil unverändert durch die Nieren wieder ausgeschieden.

3. Die molekularen Komponenten des Ch: (s.Abb.1 re.)

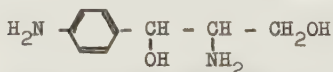
a) d,l-1-p-Nitrophenyl-2-amino-1,3-propandiol:



Dosis: 0,05 g/kg als 1 %ige wässrige Lösung - 1/2 x Gew. s.c. in verschiedenen Zeiten vor der Evipannarkose verabfolgt. Da die Substanz schwer löslich in Wasser ist, wurde sie in einer Suspension verabreicht. Als Suspensionsstabilisator wurde Tween 80 (2 Tropfen auf 5 ml) benutzt. Evipannatrium wurde bei den unter a) - i) aufgeführten Substanzen immer mit einer Dosis von 0,15 g/kg als 3 %ige wässrige Lösung - 1/2 x Gew. i.p. injiziert.

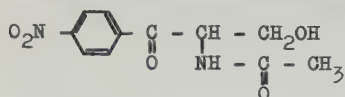
Bei Gabe 30 Min. vor der Narkose blieben die Tiere mit 60,9 zu 61,8 Min. der unvorbehandelten Kontrollen nur unwesentlich unter dem Mittelwert_{Kon}; bei einem zweiten Versuch mit 58,8 Min./75,5 zwar deutlicher, jedoch wurde keine statistisch zu sichernde Verkürzung (p 0,05) erreicht; ebenso nicht bei Voraussage von ca. 1,5 Std., 3 und 4,5 Std., wobei bei den 4,5-Std.-Tieren mit 48,5 Min./60 der Kontrolltiere noch die deutlichste Unterschreitung des Kontrollmittelwertes bestand, aber ebenfalls nicht signifikant (s.Tab.4).

b) d,l-1-p-Aminophenyl-2-amino-1,3 propandiol:



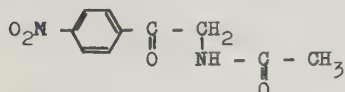
Die Dosierung war wie bei 3a) als Suspension mit Tween 80. Die Narkose erfolgte 30 Min. nach s.c. Injektion dieser Substanz. Die Schlafzeit ergab mit durchschnittlich 70,6 Min./75,6 der Kontrolltiere keine sichere Veränderung (s.Tab.4).

c) α -Acetamido- β -hydroxy-p-nitropropiphenon:



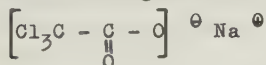
Die Dosierung war wie bei 3a) als Suspension mit Tween 80. Diese Substanz zeigte bei 4 Versuchen, in denen die Narkose 30 Min., 1,5 -, 3 - und 4 Std. nach s.c. Voraussage dieses ebenfalls im Chromatogramm aufgefundenen Abbauproduktes des CH eine längere durchschnittliche Schlafzeit als die Kontrolltiere. Die 4 Std.-serie zeigte dabei mit 70,1 Min./47,1 Min. der Kontrollen eine signifikante Schlafzeitverlängerung. Um diese Tatsache zu überprüfen, verabfolgte ich 3 mal über 3 Tage jeweils 0,05 g/kg und machte dann 4 Std. nach der 3.Gabe eine Evipannarkose. Diese blieb mit ca. 10 Min. nicht signifikant unter der mittleren Schlafzeit der Kontrolltiere (s.Tab.4).

d) α -Acetamido-p-nitro-acetophenon:



Da wir ein Wirkungsmaximum wie bei 3c) nach ca. 4 Std. vermuteten, gaben wir die Substanz s.c. als Suspension mit Tween 80 in derselben Dosierung diese Zeit vor der Narkose. Die mittlere Schlafzeit war mit 56,9 Min./53,6 der Kontrolltiere praktisch unverändert (s.Tab.4).

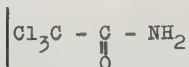
e) Trichloressigsäure Na:



Wir verabfolgten auch diese und die beiden folgenden Substanzen, um eine Wirkung auf die Schlafzeit durch diese Bestandteile des Ch, bzw. Abspaltungsprodukte zu prüfen. Trichloressigsäure-Na wurde als 0,5 %ige wässrige Lösung 1/2 x Gew. oder 0,025 g/kg s.c. bei einem pH = 7,4 30 Min. vor der Evipannarkose injiziert. Die

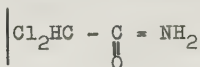
Werte lagen im Durchschnitt mit 58,1 Min. gering unter denen der Kontrollen (66 Min.) s.Tab.4).

f) Trichloracetamid:



Es wurde als 1 %ige Lösung - $1/2 \times \text{Gew.} = 0,05 \text{ g/kg}$ s.c. 30 Min. vor der Narkose in zwei Versuchen injiziert. Eine signifikante Veränderung der Schlafzeit im Sinne einer Verlängerung (77,2/66,6 bzw. 106,2/95,8 Min.) bestand nicht (s.Tab.4).

g) Dichloracetamid:



Dosiert wie 3f) und 30 Min. vor der Narkose verabfolgt, ergab Dichloracetamid ebenfalls mit 79,5 Min./72 keine Veränderung.

- h) Tween 80: - Diese als Suspensionsstabilisator benutzte Substanz wurde mit 2 Tropfen auf 5 ml der wasserunlöslichen Testsubstanzen zugesetzt. Um eine Beeinflussung der Schlafzeiten auszuschließen, gaben wir sie allein: 6 Tropfen in 5 ml aq.dest. s.c. ca. 4 Std. vor der Narkose. Die Schlafzeiten zeigten zu denen der Kontrollen keine auffallenden Veränderungen (s.Tab.4).

i) Kombinationsversuche:

Da bei einigen der vorher aufgeführten Substanzen die mittlere Schlafzeit über derjenigen der zugehörigen Kontrolltiere lag, kombinierten wir sie und verabreichten sie ca. 3,5 Std. vor der Evipannarkose, um zu sehen, ob sich die gering schlafverlängernde Wirkung der Einzelsubstanzen in der Kombination addiere. Deshalb gaben wir:

1. α -Acetamido- β -hydroxy-p-nitropropiophenon zusammen mit Trichloracetamid als Suspension von jedem 50 mg

zus. in 5 ml aq.dest. = 2 %ig - $1/2 \times \text{Gew.} = 0,1 \text{ g Gemisch/}$
kg s.c. Die Schlafzeit war mit 94,4 Min. zu der der Kon-
trollen von 95,8 praktisch unverändert.

2. α -Acetamido- β -hydroxy-p-nitropropiophenon zus. mit Di-
chloracetamid in derselben Dosierung wie i)1. wies mit
70,9/68,5 Min. die übliche Schwankungsbreite auf.
3. α -Acetamido- β -hydroxy-p-nitropropiophenon zusammen mit
p-Aminophenyl-2-amino-1,3 propandiol als Suspension
0,00239 molar oder 1 % - $1/2 \times \text{Gew.} = 0,05 \text{ g/kg s.c.}$
zeigte keinen nennenswerten Unterschied der mittleren
Schlafzeiten (78,2/85,9 Min.).
4. Trichloracetamid zusammen mit p-Nitrophenyl-2-amino-1,3-
propandiol als Suspension 0,00267 molar oder 1 % - $1/2$
Gew. = 0,05 g/kg s.c. wiesen mit 85,1/85,9 Min. gleiche
Durchschnittsschlafzeiten auf (s.Tab.4).

- - - - -

II. Nach den Untersuchungen von Repke u. Mitarb.⁷ wird Digitoxin in
der Leber mit einer TFNH - abhängigen Reaktion zu Digoxin oxi-
diert und dadurch nierenfähig gemacht. Strophanthin, dessen Ge-
nin mehr hydrophile Gruppen trägt, unterliegt einer solchen
Hydroxylierung nicht. Die beiden Substanzen wurden in ihrer Wir-
kung auf die Evipannarkose miteinander verglichen, um Anhalts-
punkte zu erhalten, ob die Oxydation des Digitoxin die Aktivi-
tät der Mikrosomenfermente beeinflusst.

Da es bekannt ist, daß Maus und Ratte relativ unempfindlich
gegen herzwirksame Glykoside sind, war es möglich, hohe Dosen
zu verabfolgen. Beide Substanzen wurden ebenfalls in Einzel-
und Dauerversuchen getestet.

Papaverin besitzt in seinem Molekül 4 Methoxygruppen. Wenn auch
sein Abbau wenig bekannt ist, erschien es uns doch interessant,
da in den Mikrosomen auch O-Demethylierungen ablaufen.

Als Vertreter der injizierbaren Tetracycline wurde Reverin im
Hinblick auf eine etwaige Leberschädigung geprüft.

Diese unter 1 a) - d) des II. Teils aufgeführten Wirkstoffe
wurden in ihrer Wirkung auf die Evipannarkose, die in einer
Dosierung von 0,15 g/kg i.p. verabfolgt wurde, untersucht:

1. a) Digitoxin:

Das wasserunlösliche Digitoxin wurde als Suspension 0,1 % - $1/2 \times \text{Gewicht} = 0,005 \text{ g/kg}$ s.c. gespritzt. Die 30 Min. später erfolgte Narkose ergab keine Veränderung gegenüber den Kontrolltieren, jedoch war die Excitation bei den mit Digitoxin vorbehandelten Tieren nach der Evipaninjektion außergewöhnlich stark. Die Tiere sprangen augenblicklich 10 - 20 cm hoch. Auch in einem zweiten Versuch nach 24 Std. war keine Schlafzeitveränderung aufgetreten. In einem von insgesamt drei Versuchen, bei denen die Narkose nach 48 Std. erfolgte, war die Schlafzeit signifikant verlängert, während die beiden anderen keine Veränderung zeigten. Die bei diesen beiden Versuchen benutzten Mäuse waren sehr alte Tiere = bis 40 g, die sich erfahrungsgemäß sowohl der Evipannarkose gegenüber als auch zuvor verabfolgten Substanzen als unempfindlicher verhielten. Alle diese nach 24 bzw. 48 Std. Evipan-gespritzten Tiere zeigten eine unauffällige Excitation.

Bei einem Dauerversuch, in dem Digitoxin als Suspension 0,1 %ig - $1/3 \times \text{Gew.} = 0,003 \text{ g/kg}$ insgesamt 5 mal alle 24 Std. s.c. gespritzt und Evipan 5 Std. nach der letzten Injektion gegeben wurde, war die Schlafzeit mit 69 Min./50,1 der Kontrolltiere an der Grenze der Signifikanz ($p 0,01$). Die Tiere hatten ihr Ausgangsgewicht nicht überschritten, eher lagen sie 1 - 2 g unter diesem, und zeigten ein struppiges Fell. Bei einer Dosierung des Digitoxin von nur 0,0005 g/kg in derselben Versuchsanordnung wie zuvor, war keine statistisch zu sichernde Verlängerung mehr nachweisbar, obwohl die mittlere Schlafzeit 11 Min. länger war als die der Kontrollen. - In einem letzten Digitoxinversuch wurden 0,0005 g/kg 8 mal über 8 Tage gegeben und 7 Std. später die Narkose gemacht, ohne daß jedoch überhaupt eine Verlängerung nachzuweisen gewesen wäre. Die Tiere verhielten sich hinsichtlich des Excitationsstadiums unauffällig und ihr Zustand war normal (s.Tab.5).

b) Strophanthin:

Bei Strophanthin g, das einmal als 0,1 %ige wässrige Lösung - $1/2 \times \text{Gew.} = 0,005 \text{ g/kg}$ s.c. 30 Min. vor der

Evipannarkose gegeben wurde, war eine beachtliche signifikante Verlängerung der Schlafzeit von 76,7/49,1 Min. der Kontrollen aufgetreten. Nach der Strophanthininjektion verhielten sich die Mäuse auffallend ruhig und verharrten regungslos in flacher Bauchlage, sichtlich beschleunigt atmend. Nach Herabsetzung der Dosis auf 0,003 g/kg in derselben Versuchsanordnung lag die mittlere Schlafzeit 6,8 Min. über der der Kontrolltiere (61,3/54,5), jedoch nicht signifikant. - Der Dauerversuch mit 0,1 % - 1/10 x Gewicht oder 0,001 g Strophanthin s.c. insgesamt 5 x über 5 Tage alle 24 Std. gegeben, bei 5 Std. nach der letzten Injektion erfolgter Evipangabe zeigte keine Veränderung der mittleren Schlafzeit. - In den beiden zuletzt angeführten Versuchen verhielten sich die Mäuse nach der Strophanthininjektion normal (s.Tab.6).

c) Papaverin:

Papaverin wurde als 1 %ige wässrige Lösung - 1/2 x Gew. = 0,05 g/kg s.c. verabfolgt und 30 Min. danach Evipan i.p. injiziert. Eine statistisch zu sichernde Wirkung auf die Schlafdauer trat nicht auf (s.Tab.6).

d) Reverin:

Dieses Tetracyclin wurde als 1 %ige wässrige Lösung - 1 x Gew. oder 0,1 g/kg gegeben. Die Dosierung war im Vergleich zum Ch recht hoch und beträgt ein Mehrfaches der am Menschen üblichen. Bei einmaliger Verabreichung wurde keine Veränderung der Evipanschlafzeit gefunden, wobei Evipan 30 Min. nach der Reverininjektion gegeben wurde (83,2/80,4 Min.). Auch wenn Reverin 5 Tage lang alle 24 Std. in derselben Dosierung gegeben wurde, war die Evipannarkose 5 Std. nach der letzten Reverininjektion mit 62 Min./53,4 der Kontrolltiere nicht signifikant verändert (s.Tab.6).

2. a) p-Oxybenzoesäureester:

Als p-Oxybenzoesäureester wurden verwandt:

p-Oxybenzoesäure-aethylester (Nipasol^R)

p-Oxybenzoesäure-methylester (Nipagin^R)

p-Oxybenzoesäure-propylester (Nipasol-M^R)

Diese als Lebensmittelkonservierungsstoffe viel benutzten Substanzen wurden sowohl in ihrer Wirkung auf die Schlaf-

zeit im Einzelversuch als auch in Dauerversuchen geprüft. Sie wurden als wässrige Lösung 0,1 % - 1 x Gew. = 0,01 g/kg s.c. gespritzt, während Evipan - falls nicht anders angegeben - in verschiedenen Zeitspannen danach als 3 %ige wässrige Lösung - $\frac{1}{3}$ x Gew., also 0,1 g/kg i.p. gegeben wurde. N i p a s o l war bei zwei Versuchen ohne Einfluß auf die Evipannarkose, die 30 Min. später gemacht wurde; ebenso N i p a g i n bei 10 Min. später verabfolgtem Evipan. Bei 2 Versuchen mit Nipagin, in denen 30 Min. nach der Injektion Evipan gegeben wurde, war zwar eine auffallende "Verlängerung" von 50 bzw. 30 %, aber die statistische Sicherung ist trotz dieser großen Unterschiede in der mittleren Schlafzeit zu den Kontrollen nicht möglich, da die Tiere teils nicht einschliefen, andererseits die Schlafzeiten schwankten. Wegen der auffallenden, aber nicht zu sichernden Verlängerung wurde Nipagin auch im Trinkwasser 0,1 %ig über 8 Tage gegeben. 15 Tiere tranken in dieser Zeit knapp 200 ml. Gleichmäßiges Trinken bei allen Tieren vorausgesetzt, würde das eine Tagesaufnahme von 1,66 mg/Tier + Tag, d.h., bei einem durchschnittlichen Gewicht der Tiere von 27 g ca. 0,06 g/kg bedeuten. Auch bei dieser Dosis wurde keine Beeinflussung der Narkose festgestellt, die ca. 6 Std. nach Absetzen des Trinkwassers mit 0,15 g Evipan/kg gemacht wurde.

Alsdann wurde Nipagin, Nipasol, N i p a s o l - M 4 mal über 4 Tage s.c. gespritzt und Evipannatrium jeweils 24 Std. nach der letzten Injektion gegeben. Auch in diesen insgesamt 5 Versuchen war eine statistisch zu sichernde Veränderung der Schlafzeiten im Vergleich zu den Kontrolltieren nicht feststellbar (s.Tab.7).

b) Gallussäure-n-propylester:

Diese Substanz ist schwer wasserlöslich, aber auch in Oel ist seine Löslichkeit nicht groß. Wir stellten uns aus der Substanz durch kräftiges Schütteln verschiedene Lösungen als Suspension her. Diese waren so stabil, daß eine einigermaßen genaue Dosierung möglich war:

1. 0,3 % - 1 x Gew. = 0,03 g/kg s.c.; 30 Min. später erfolgte die Evipannarkose mit 0,15 g/kg.

2. 0,2 % - 1 x Gew. = 0,02 g/kg s.c. und 4 Std. später erfolgende Evipannarkose.

In beiden Versuchen waren die Schlafzeiten gegenüber den Kontrollen um ein Weniges kürzer (107,5/111,6 bzw. 52,9/60 Min.), aber statistisch nicht zu sichern (s.Tab.7).

- - - - -

D. Diskussion

Die im 1. Abschnitt beschriebenen Versuche befaßten sich mit der Frage der Mikrosomengiftigkeit von Chloramphenicol und seinen physiologischen Abbau- bzw. synthetischen Vorstufen. Zunächst wurden vorausgegangene Befunde des Instituts sowie die anderer Autoren bestätigt, daß Ch schon in sehr kleinen Dosen (0,005 g/kg) die Schlafzeit von Hexobarbital auf etwa das Doppelte verlängert. Zur Frage, ob das unveränderte Molekül die "Wirkform" darstellt, oder ob die para-ständige-Nitrogruppe am Phenylsubstituenten reduziert wird, konnten einige Beiträge erbracht, das ganze Problem aber noch nicht endgültig gelöst werden. Aus unseren Versuchen ergibt sich das Folgende: Wird die p-ständige Nitrogruppe im intakten Ch-Molekül zur Aminogruppe in vitro reduziert, so geht die Hemmwirkung auf die H-Narkose deutlich zurück, ist aber immer noch erheblich (Grenzdosis: 0,02 g/kg).

Eine Hemmung des Evipanabbaues fand sich auch bei dem α -Acetamido- β -hydroxy-p-nitropropiophenon. Diese war etwa 6 x schwächer als die des Ch.

Nach Abspaltung der Dichloressigsäure-Gruppe ist die Wirkung auf die Evipannarkose verlorengegangen. p-Nitro- und p-Aminopropandiol waren bei einer Dosierung von 0,05 g/kg ohne Wirkung. Andererseits waren auch Dichloressigsäure und Trichloressigsäure in Gestalt ihrer Na-Salze und als Amide wirkungslos.

Zu einer Hemmung des Evipanabbaues ("Mikrosomengiftigkeit") gehört also das gesamte Molekülgerüst. Quantitative Verschiebungen entstehen, wenn die Nitrogruppe reduziert ist und wenn das Chlor im Acetatsubstituenten fehlt. Ob - wie in der Einleitung aufgeführt - Zwischenstufen des Ch in Form einer p-Hydroxylamin- bzw. p-Nitrosoverbindung (s.Abb.1 li.) im

Organismus entstehen und wirksam sind, konnte nicht entschieden werden, da uns die Substanzen nicht zur Verfügung standen. Außerdem wäre ein quantitativer Vergleich nicht nur im Ganztier, sondern auch am Leberschnitt durchzuführen. Für die Notwendigkeit des Gesamtmolekülgerüsts ist auch der Befund von Bedeutung, daß das red. Ch nach den dünnenschichtchromatographischen Ergebnissen im Urin praktisch nicht abgebaut, aber wirksam ist.

Die von G.N.Smith⁸ gemachte Beobachtung, daß p-Aminophenyl-2-amino-1,3 propandiol, welches als Abbauprodukt des Ch aus Bakterienkulturen isoliert wurde, das Wachstum von *Escherichia coli* stimuliert und die Untersuchungen von A.Cestari u.S.Bozzi,⁹ daß p-Nitrophenyl-2-amino-1,3 propandiol und mehrere Strukturverwandte mit verschiedenen Seitenketten an dem O_2N -  - Gerüst eine minimale oder überhaupt keine antibiotische Wirkung neben Ch als Standard zeigten, passen zu unseren Befunden, die besagen, daß diese Substanzen ohne Wirkung auf die Evipannarkose sind.

Andererseits zeigt auch die Tatsache (D.Gottlieb u.Mitarb.^{10,11}), daß die Biosynthese des Ch durch *Streptomyces venezuelae* in einem synthetischen Medium durch Zugabe von Vorläufern des Ch wesentlich beschleunigt wird, daß diese Produkte als Vorstufen des Ch bei *Strep.ven.* vorkommen, aber auch keine Giftwirkungen im Sinne einer Hemmung aufweisen. Dabei besitzen auch Verbindungen, die nur wenig strukturelle Beziehung zum Gesamtmolekül haben - etwa in Form des "dichloracetic.acid" - diese Wirkung in abgeschwächter Form.

Wie aus den im II. Teil der Arbeit durchgeführten Versuchen hervorgeht, ist die Beeinflussung der Mikrosomenaktivität beim Abbau des H für Ch recht spezifisch. Weder die Oxydation von Digitoxin zu Digoxin, die gleichfalls TPNH-abhängig ist, noch der Abbau des Papaverins riefen eine deutliche Veränderung der Evipanschlafzeit hervor. Die bei Strophanthin beobachtete Verlängerung der Evipannarkose möchten wir vor allem auf eine Allgemeinintoxikation der Tiere durch die Substanz selbst zurückführen, zumal Strophanthin in der Leber - wenn überhaupt - in wesentlich geringerem Umfang als Digitoxin oxidiert werden dürfte.

Die Befunde an den p-Oxybenzoesäureestern und an dem Gallussäure-n-propylester haben eine praktische Bedeutung, da sie

heute als Lebensmittelkonservierungsstoffe verwendet werden. Es ist interessant, daß von den p-Oxybenzoesäureester nur der Methylester in einer Reihe von Versuchen eine Verlängerung der H-Schlafzeit erzeugte, während die anderen Ester vollkommen indifferent waren. Wir würden deswegen der Nichtzulassung des Methylesters (= Nipagin) zur Lebensmittelkonservierung ohne weiteres zustimmen.

E. Zusammenfassung

An der weißen Maus wurde mit Hilfe der H-Narkose die Beeinflussung der Aktivität der oxidierenden Mikrosomenfermente der Leber durch Ch, seine physiologischen Abbauprodukte und seine wesentlichen molekularen Komponenten untersucht. Eine Hemmung des Evipanabbaues wurde für Ch selbst bestätigt. Im Vergleich zu Ch wirkte sein Reduktionsprodukt - in dem die p-Nitrogruppe in eine NH_2 -gruppe umgewandelt wurde - etwa um die Hälfte schwächer. Wirksam war auch noch, wenn auch wesentlich abgeschwächt, α -Acetamido- β -hydroxy-p-nitro-propiophenon, das anstatt der Dichloressigsäure im Ch nur Essigsäure enthält.

Alle Folgesubstanzen, bei welchen die Dichloressigsäure abgespalten war, waren wirkungslos. Auch chlorierte Essigsäure (Dichlor-, Trichloressigsäure) zeigten keinen Hemmeffekt.

Digitoxin, das bei der Ratte in den Lebermikrosomen TPNH-abhängig oxidiert wird, sowie Papaverin, bei dem eine O-Demethylierung stattfinden kann, waren ohne Wirkung auf den Evipanabbau.

Gleichfalls ohne Wirkung waren auch bei länger dauernder Verabreichung p-Oxybenzoesäure- und Gallussäureester, die für die Lebensmittelkonservierung Bedeutung haben.

Literaturverzeichnis
=====

- 1) Spröggel, E.: "Über die gegenseitige Beeinflussbarkeit der Entgiftung bei Arzneimittelkombinationen." Inauguraldissertation. (1962)
- 2) Krug, A.: "Beeinflussung des Hexobarbitalabbaues durch Chloramphenicol bei der Ratte."
"Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.Pharmak" 246, Heft 1, 58 (1963)
- 3) Bredschneider, Stur, Zweymüller:
"Schwere Chloramphenicol-Nebenwirkungen bei Neugeborenen."
Dtsch.med.Wschr. 33, 1444 (1960)
- 4) Worrel, C., Smith, N.:
"The application of paper-partition chromatography to the analysis of Ch and decomposition products."
Arch.of Biochem. 28, 1 (1950)
- 5) Bolz, W.: "Allgemeinnarkose beim Tier."
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart (1961)
S.56, 193, 203.
- 6) Haan, Kiese, Weber:
"Reduktion von Nitrobenzol zu Anilin in roten Blutkörperchen."
"Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.Pharmak" 235, 365-372 (1959)
- 7) Repke, K.: "Spaltung und Hydroxylierung von Digitoxin bei der Ratte."
"Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.Pharmak" 237, 34 (1959)
"Metaboliten des Digitoxin"
"Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.Pharmak" 237, 155 (1959)

- 8) Smith,G.N.: "The influence of chloromycetin decomposition products on the growth of *Escherichia coli* and their effects on reversing the growth-inhibiting action of the antibiotic."
Arch.Biochem.Biophys. 40, 314-22 (1952)
- 9) Cestari,A.,Bozzi,S.:
"Chemotherapeutic compounds of a structure similar to chloromycetin."
Farm.sci.e tec. (Pavia) 5,649-54 (1950)
" " " " " 6,561- 5 (1951)
- 10) Gottlieb,D.,Carter,H.E., Legator,M., Gallicchio,V.:
"The biosynthesis of chloromycetin.
Precursors stimulating the synthesis."
J.Bacteriol 68, 243-51 (1954)
- 11) Gottlieb,D., Robbins,P.W., Carter,H.E.:
"Acetylation of p-nitrophenylserinol."
J.Bacteriol 72, 153-6 (1956)

A N H A N G

(Abbildungen,
Tabellen)

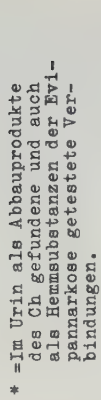
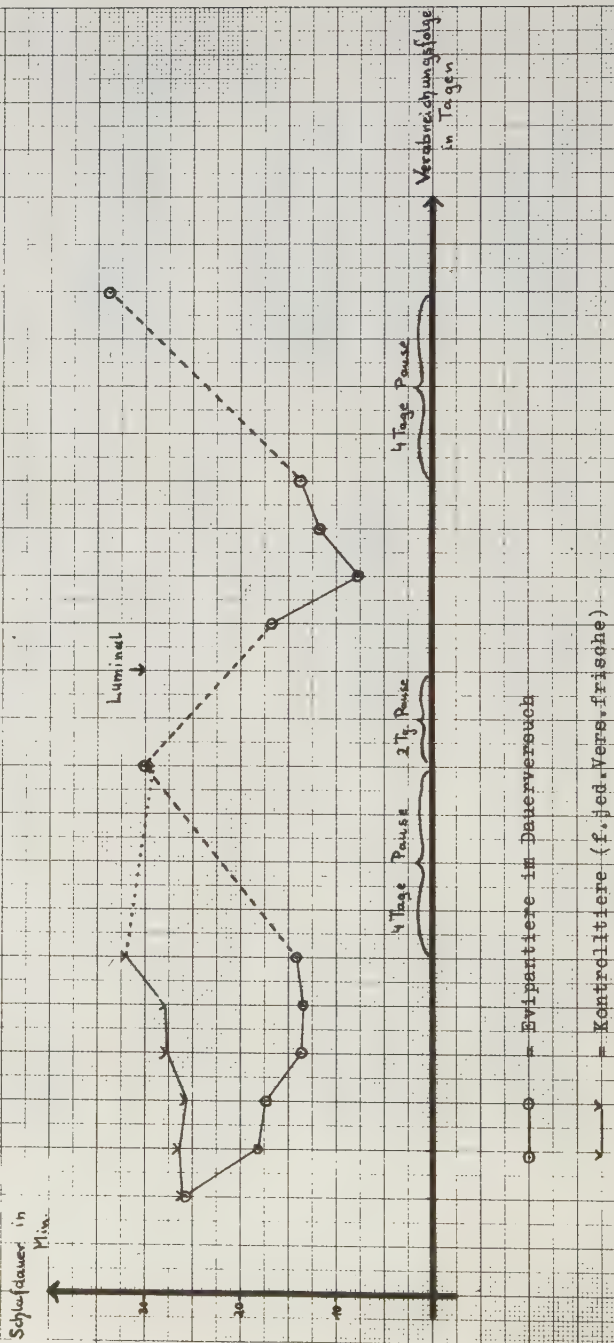


Abb. 2*



Schlafdauer in
Min.Disorientierung
↓Verbrechungsfolge
48 u. 24 Std.

○—○ = Evipantiere im Dauerversuch
 v—v = Kontrolltiere (f. jed. Vers. frische)

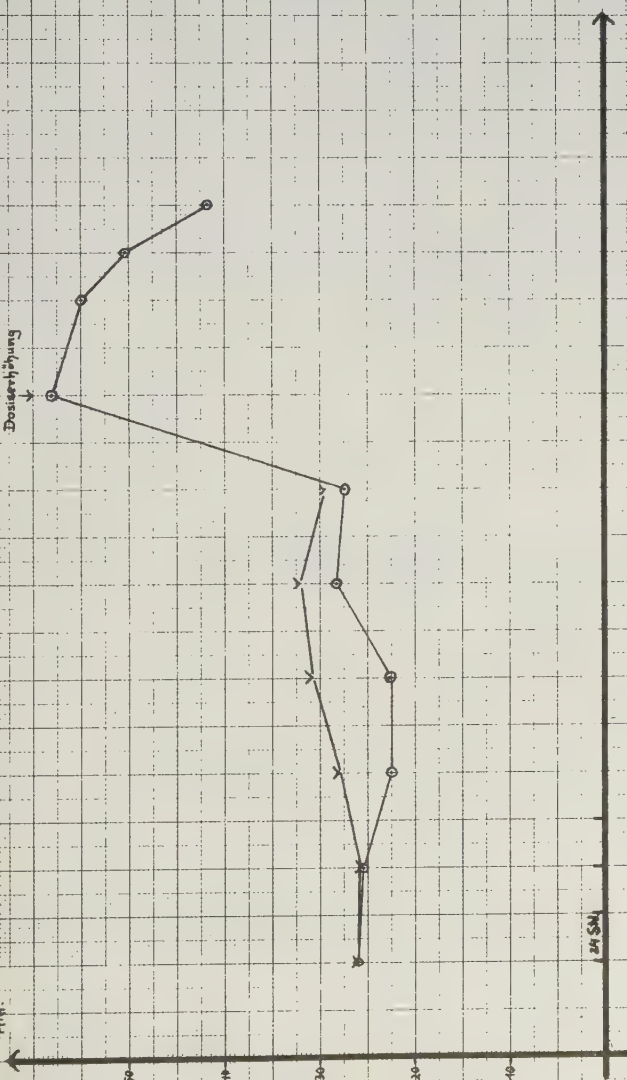
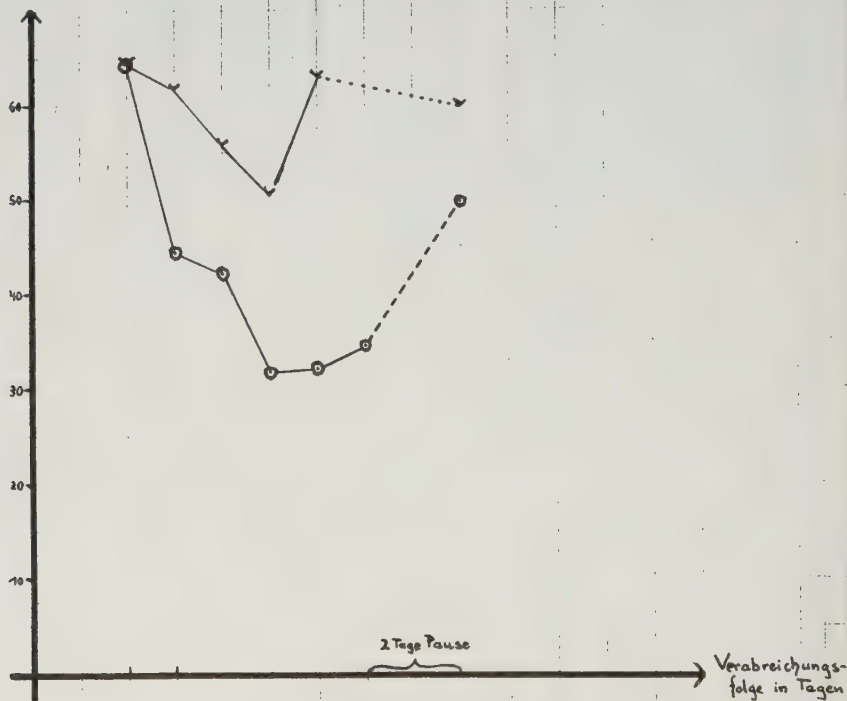


Abb. 4.

Schlafdauer in Min.



○—○ = Evipantiere im Dauerversuch

▽—▽ = Kontrolltiere (f. jed. Vers. frische)

Zahlen zu Abb.2,3,4:

Evipannatrium im Dauerversuch.

1.) 3%-1/3 Gew.=0,1 g/kg,i.p.,alle 24 Std.

Schlafdauer (min.)	-Kontrollen	σ_{m1}	σ_{m2}	p (Student)
25,7	26	3,483	4,124	---
18,1	26,5	2,930	3,152	0,05
17,3	25,8	1,783	2,174	0,005
13,7	27,9	1,237	2,157	0,0005
13,5	28	1,335	1,773	0,0005
14,1	32,3	1,688	2,720	0,0005
4 Tage Pause				
30,1	29,4	4,617	5,224	---
2 Tage Pause,dann Luminal 2%-1/2 Gew.s.c.-24 Std.später:				
16,8	----	2,756	----	0,0125
7,7	----	1,184	----	0,005
11,8	----	1,030	----	
13,9	----	0,936	----	
4 Tage Pause				
33,9	----	3,793	----	0,0005

2.) 3%-1/3 Gew.=0,1 g/kg,i.p.,alle 48 Std.

26	26	4,124	----	---
25,5	25,8	3,683	2,174	---
22,5	28	2,156	1,773	0,05
22,5	30,8	2,007	2,564	0,01
28,3	32,1	4,233	3,322	0,25
27,4	29,4	3,721	5,224	0,4
Dosiserhöhung: 1/2 x Gew.				
58	----	5,275	----	---
Verkürzung der Injektionsfolge auf alle 24 Std.:				
55	----	1,273	----	0,3
50,3	----	4,616	----	0,2
41,6	----	3,824	----	0,1

3.) 3%-1/2 Gew.=0,15 g/kg,i.p.,alle 24 Std.

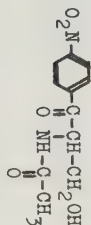
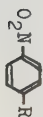
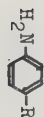
64,4	----	2,011	----	---
44,4	61,7	2,574	4,078	0,0025
42,1	55,7	2,326	5,905	0,025
31,8	50,6	2,653	2,504	0,0005
32,1	63	2,213	6,206	0,0005
34,5	----	2,226	----	---
2 Tage Pause				
49,7	60	4,604	3,832	0,1

Abb.5. Chromatogr. Nachweis von α -Acetamido- β -hydroxy-p-nitropropionphenon als Abbauprodukt des Ch im Harn.

Laufmittel: But/Eisessig/H₂O (4+1+5)

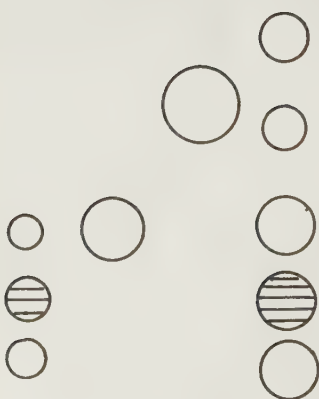
Detektion: TiCl₃/Br₂/Butylnitrit/N-Naphthylacetylendiamin

Laufzeit : 2 Std.



Urin

Fließmittelfront



x

x

x

x

Abb.6. Chromatogr.Nachweis von p-Nitro- und p-Aminophenyl-2-amino-1,3 propanediol als Abbauprodukte des Ch im Harn.

Laufmittel: But/Eisessig/H₂O (4+1+5)

Detektion : TiCl₃/Br₂/Butylnitrit/N-Naphthylacetylendiamin

Laufzeit : 2 Std.

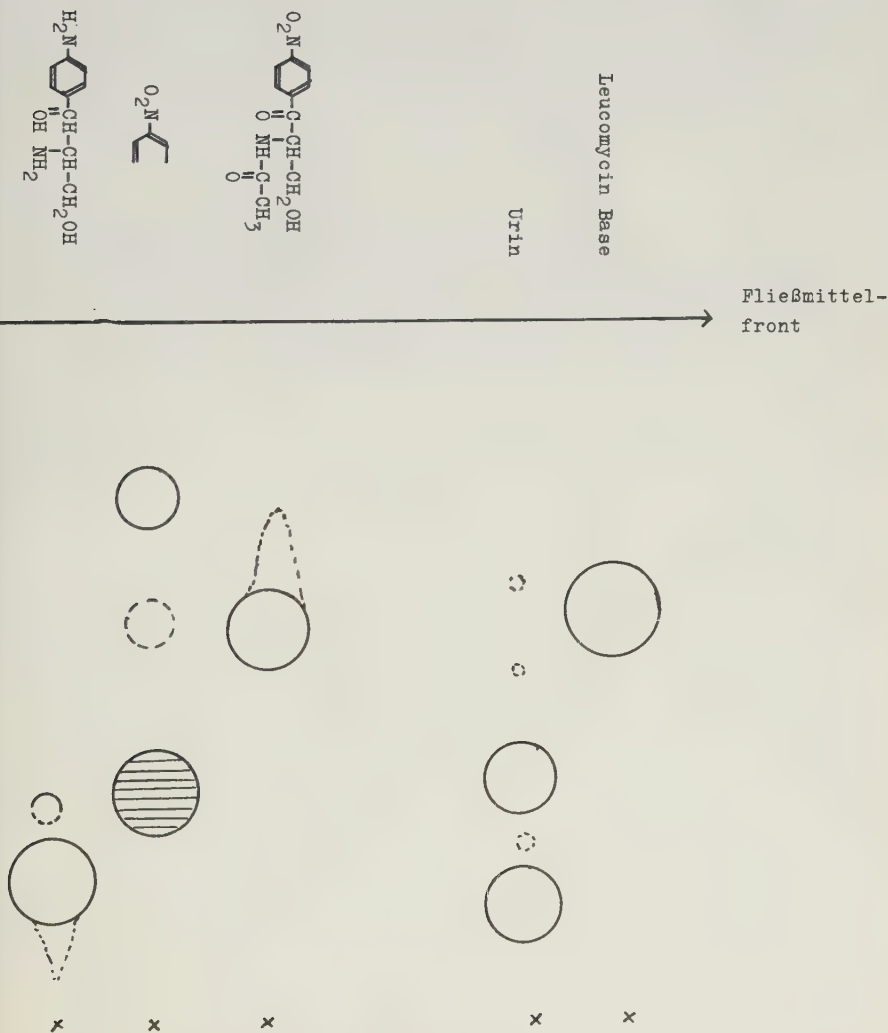
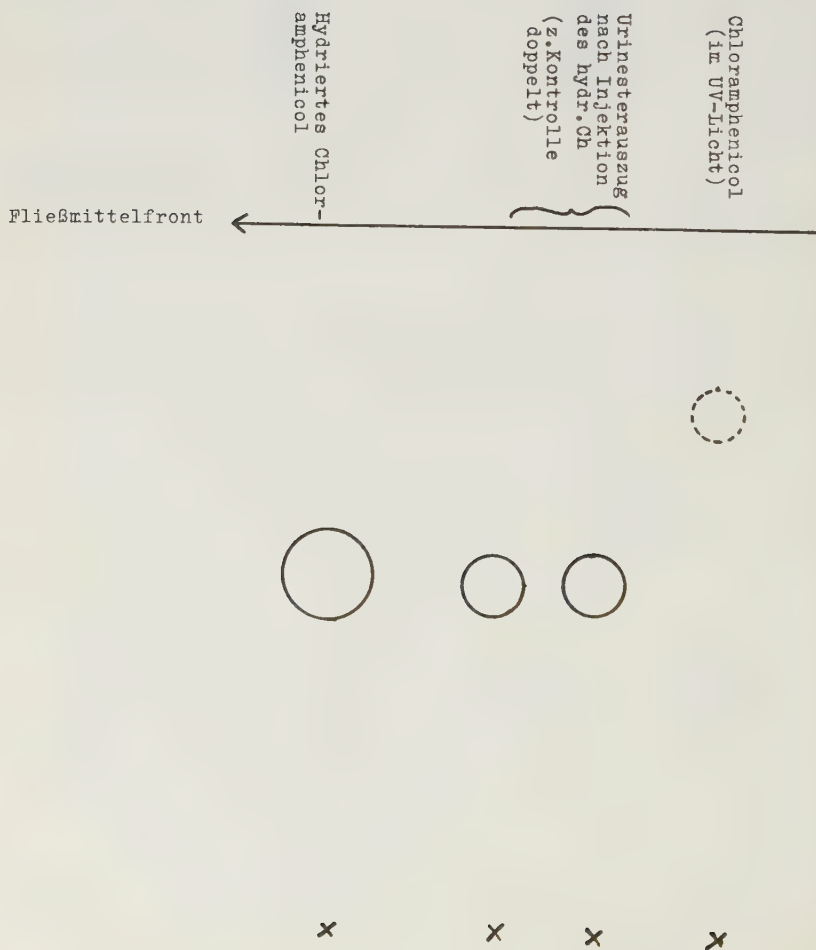


Abb.7 Dünnsch.chromatographischer Nachweis, daß nach s.c.-Injektion von "red.Ch" nur das red.Ausgangsprodukt im Urin ausgeschieden wird.

Laufmittel: Bu/Eisessig/H₂O
4 + 1 +5

Detektion : Bu.NO₂/kuppeln

Laufzeit : 2 Std.



Tab.1.

Substanz: Evipannatrium				
Dosis	Zubereitung	Applikation	Mittlere Narkosezeit	Streuung des Mittelwertes
0,2 g/kg	4%-1/2 Gew.	s.c.	87,2	13,06
0,15 g/kg	3%-1/2 "	"	25,2	4,913
0,17 "	35%-1/2 "	"	37,6	4,614
0,1 "	1%-1 "	i.p.	21,8	3,602
0,1 "	2%-1/2 "	"	28,5	2,701
0,1 "	3%-1/3 "	"	21,9	2,943

Tab.3.

0,15 g Evipannatrium/kg i.p., 30 Min. nach Gabe von:

Substanzen	Dosis	Mittlere Schlafzeit	Streuung des Mittelwertes	Signifikanz P <
a) red.Ch. Kontrollen	0,05 g/kg "	89,1 53,6	8,230 5,375	↖ 0,0025
b) Chloramph. red.Ch. Kontrollen	0,02 g/kg " "	214,9 142,3 (127,1) 80,5 (91)	Minuten 12,23 13,36 (7,729) 6,190 (7,332)	0,0005 ↗ 0,0005 ↘ 0,0025 ←
c) Chloramph. red.Ch. Kontrollen	0,005 g/kg " "	95,9 79 61	8,072 7,819 4,419	0,0025 ↖ 0,05 ←

O,1 g Evipannatrium/kg.i.p.nach Vorgabe von:

a) Halothan

Dosis	Anzahl der Vorgaben	Zeitspanne zw. letzter Verabfolg. +Evangabe	Mittlere Schlafdauer =s _{m1} (min.)	-der Kontrollen =s _{m2}	Streuung der Mittelwerte =σ _{m1}	Signifikanz (n.Student) =p<
1%-1 Std. /die (Inhalation)	5	5 Std.	61	33,3	3,499	1,367
	7	30 "	31	36,3	2,569	3,425
	11	22 "	29	17,3	2,303	1,992
	15	20 "	35,7	19,3	5,372	3,216
	"	27 "	24,3	15,1	2,120	1,347
	"	22 "	21,6	14,2	1,422	0,906
	"	55 "	23,8	28,3	2,049	3,064
	"	90 "	23,6	33,2	4,226	3,541

Tab.2.

O,15 g Evipannatrium/kg.i.p.nach Vorgabe von:

b) Digitoxin

0,005 g/kg (s.c.)	1	30 Min.	50	49,1	3,624	4,665	---
	"	24 Std.	126,6	131,3	6,297	11,18	0,30
	"	48 "	135	103,8	5,750	7,018	0,0025
	"	" "	65/61,7	61,1	4,8/3,22	3,35	---
0,003 g/kg (s.c.)	5 alle 24 h	5 Std.	69	50,1	5,211	2,285	0,01
0,0005 g/kg (s.c.)	" "	" "	99	88	10,93	7,620	0,20
0,0005 g/kg (s.c.)	8 "	7 "	50,4	53,4	6,588	5,393	---

Tab.5.

0,15 g Evipannatrium/kg.i.p.nach Vorausgabe von:

a) **Uhlaramphenicol**

Dosis	Anzahl der Vorausgaben	Zeitspanne zw. letzter Verabfolgung +Evipangabe	Mittlere Schlafdauer (min.) $\bar{s}_{m1}$	-der Kontrollen $\bar{s}_{m2}$	Streuung der Mittelwerte $=\sigma_{m1}$	$=\sigma_{m2}$	Signifikanz (n.Student) $=p <$
0,02 g/kg	1	30 Min.	170,4	61,8	15,13	4,860	0,0005
b) D-1-p-Nitrophenyl-2-amino-1,3 propandiol							
0,05 g/kg (s.c.)	1	30 Min.	60,9	61,8	3,246	4,860	---
	1	"	58,8	75,5	5,888	6,934	0,05
	"	1,5 Std.	70	65,6	6,604	6,473	0,35
	"	3 "	73	81,8	6,492	5,456	0,25
	"	4,5 "	48,5	60	5,062	4,306	0,05
c) D-1-p-Aminophenyl-2-amino-1,3 propandiol							
0,05 g/kg	1	30 Min.	70,6	75,6	5,893	6,934	---
d) α -Acetamido- β -hydroxy-p-nitropropionphenon							
0,05 g/kg (s.c.)	1	30 Min.	121,8	111,6	14,1	7,808	0,30
	"	1,5 Std.	78,6	65,6	5,239	6,473	0,10
	"	3 "	88,4	81,8	8,916	5,456	0,30
	"	4 "	57	66,6	5,312	7,338	0,20
	3 alle 24 h	4 "	70,1	47,1	2,849	5,839	0,0025
e) α -Acetamido-p-nitro-acetophenon							
0,05 g/kg	1	4 Std.	56,9	53,6	4,665	5,375	---
f) Trichloressigsäure Na							
0,025 g/kg (s.c.)	1	30 Min.	58,1	66	3,800	3,958	0,10

Tab.4.

0,15 g Evipannatrium/kg.i.p.nach Vorgabe von:

g) Trichloracetamid

Dosis	Anzahl der Vorgaben	Zeitspanne zw. letzter Verabfolgung +Eingabe	Mittlere Schlafdauer (min.)	-der Kontrollen =s _{m2}	Streuung der Mittelwerte =σ _{m1}	Signifikanz (n-Student) =p<
0,05 g/kg (s.c.)	1	30 Min.	77,2	66,6	5,218	0,15
	"	"	106,2	95,8	9,332	0,20
h) Dichloracetamid						
0,05 g/kg (s.c.)	1	"	79,5	72	9,674	---
i) Tween 80						
6 gtt/5 ml aq. dest.	1	4 Std.	61,5	72	9,674	0,15
j) α-Acetamido-β-hydroxy-p-nitropropionphenon + Trichloracetamid						
0,1 g/kg (s.c.)	1	3,5 Std.	94,4	95,8	3,724	---
k) α-Acetamido-β-hydroxy-p-nitropropionphenon + Dichloracetamid						
0,1 g/kg (s.c.)	1	3,5 Std.	70,9	68,5	6,253	---
l) α-Acetamido-β-hydroxy-p-nitropropionphenon + p-Aminophenyl-2-amino-1,3 propandiol						
0,05 g/kg (s.c.)	1	3,5 Std.	78,2	85,9	4,818	0,25
m) p-Nitrophenyl-2-amino-1,3 propandiol + Trichloracetamid						
0,05 g/kg (s.c.)	1	3,5 Std.	85,1	85,9	8,184	---

a) Strophanthin g

0,005 g/kg (s.c.)	1	30 Min.	76,7	49,1	3,341	0,0005
0,003 g/kg (s.c.)	"	"	61,3	54,5	2,899	0,10
0,001 g/kg (s.c.)	5 alle 24 h	5 Std.	49,4	50,1	1,990	---

b) Papaverin

0,05 g/kg (s.c.)	1	30 Min.	122,6	132	12,47	0,35
---------------------	---	---------	-------	-----	-------	------

c) Reverin

0,1 g/kg (s.c.)	1	"	83,2	80,4	5,761	---
	5 alle 24 h	5 Std.	62	53,4	6,756	---

Tab.4.
(Forts.)

Tab.6.

. 0,1 g Evipannatrium/kg.i.p.nach Vorausgabe von:

a) Nipasol

Dosis	Anzahl der Vorausgaben	Zeitspanne zw. letzter Verabfolg. +Evipangabe	Mittlere Schlafdauer = s_{m1}	-der Kontrollen = s_{m2}	Streuung der Mittelwerte = σ_{m1}	= σ_{m2}	Signifikanz (n.Student) = $p <$
0,01 g/kg (s.c.)	1	30 Min.	24,3	24	2,775	3,817	---
	"	"	24,3	22,8	4,129	3,851	---
	4 alle 24 h	24 Std.	24,4	26,4	2,268	2,503	0,10
	"	"	36	39	3,154	3,973	0,30
b) Nipasol M							
0,01 g/kg	4 alle 24 h	24 Std.	19,6	18,2	2,936	2,667	---
c) Nipagin							
0,01 g/kg (s.c.)	1	10 Min.	28,5	31,8	4,582	4,963	0,35
	"	30 "	43,1	28	8,477	7,755	0,10
	"	"	30,4	22,8	1,913	3,851	0,10
	4 alle 24 h	24 Std.	20,7	26,4	3,349	2,503	0,10
o,1 % 8 Tage im Trinkwasser, ca 6 Std. nach Absetzen desselben Evipan 0,15 g/kg:							
			36	39	3,154	3,973	0,30
			55,8	52,1	5,181	3,015	0,30
o,15 g Evipannatrium/kg.i.p.nach Vorausgabe von:							
d) Gallussäure-n-propylester							
0,03 g/kg	1	30 Min.	107,5	111,6	8,689	7,808	---
0,02 g/kg	"	4 Std.	52,9	60	5,560	4,306	---

Tab.7.

Lebenslauf =====

Ich, Ulrich Walter Rudolf Otto Jehn, wurde am 9. Februar 1939 als zweiter Sohn des Arztes Dr. med. Walter Jehn und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Lenzner in Marburg/Lahn geboren. Vom Herbst 1945 bis Ostern 1950 besuchte ich in Marburg die Volksschule und anschließend bis zum 3.3.1959 das Gymnasium Philippinum, ebenfalls in Marburg, wo ich die Reifeprüfung bestand.

Nach Ableistung meiner einjährigen Militärdienstpflicht begann ich am 29.4.1960 mit dem Studium der Medizin an der Philipps-Universität zu Marburg. Hier legte ich nach dem Wintersemester 1960/61 den ersten Teil der ärztlichen Vorprüfung ab. Dem folgte nach dem Sommersemester 1962 der zweite Teil der ärztlichen Vorprüfung. Mein Studium setzte ich im Wintersemester 1962/63 an der Universität Innsbruck fort, wechselte im Sommersemester 1963 an die Christian-Albrechts Universität zu Kiel und kehrte zum Wintersemester 1963/64 wieder nach Marburg zurück, wo ich mein klinisches Studium beendet habe.

Die experimentellen Arbeiten für die eingereichte Dissertation wurden in der Zeit vom Wintersemester 1963/64 bis zum Beginn des Wintersemesters 1964/65 in dem Pharmakologischen Institut der Philipps-Universität Marburg durchgeführt.

Ich wohne in Marburg, Biegenstrasse 26, was zugleich auch meiner Heimatanschrift entspricht.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren
Professoren und Dozenten:

Philipps-Universität Marburg:

Beckmann, Berendes, Braun-Falco, Brück, Buchholz, Bücher,
Dimroth, Dölle, Drawert, Franke, Gedigk, Hamm, Hartmann,
Hensel, Heuser, Hildebrandt, Hornung, Jacob, Kottmeyer,
Lang, Linneweh, Lübbers, Mahr, Mann, Martini, Marx, Mattes,
Maurath, du Mesnil de Rochemont, Neubauer, Niessing,
Petry, Prinz, Rodeck, Salfeld, Sauer, Schlayer, Schmid,
Schmitz, Schwaiger, Seidel, Siegert, Siess, Straub, Strei-
cher, Vogt, Walcher, Wendt, Würtele.

Universität zu Innsbruck:

Gabl, Hallhuber, Hittmair, Huber, Lang, Leubner, Rössler,
Steiner, Tapfer.

Christian-Albrechts-Universität Kiel:

Behrens, Bernsmeier, Eufinger, Gärtner, Huber, Knothe,
Lennert, Wagemann, Wulf.

